

УДК 538.955+577.322.23

ИССЛЕДОВАНИЕ КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЯ АЛЬБУМИНА И 16-ДОКСИЛСТЕАРИНОВОЙ КИСЛОТЫ В ВОДНЫХ РАСТВОРАХ МЕТОДОМ ^1H РЕЛАКСАЦИИ

*Т.Н. Николаева, М.А. Рудакова, Ю.А. Фатрахманова,
А.Ш. Гиззатуллина, В.Д. Скирда*

Аннотация

В работе приведены результаты исследования протонной спин-решеточной релаксации в двойных и тройных молекулярных системах, содержащих буферный раствор, альбумин, спирт, плазму крови человека и 16-доксилстеариновую кислоту (16-ДСК), в зависимости от состава. Показано, что введение в плазму крови парамагнитных меток типа 16-ДСК позволяет на основании данных спин-решеточной релаксации судить о связывающей способности альбумина.

Ключевые слова: ЯМР, спин-решеточная релаксация, 16-доксилстеариновая кислота, альбумин, плазма крови, онкология.

Введение

Несмотря на существенный прогресс современной медицины в методах лечения онкопатологий, для достижения высокой эффективности лечения этих социально значимых заболеваний необходимо их раннее диагностирование. В поисках подходов к разработке методов диагностики следует обращать внимание на возможность применения этих методов в широкой практике. Таким образом, существенным для построения такого метода диагностики является выбор биомедицинского объекта, несущего информацию о наличии онкологических процессов в организме. Наиболее предпочтительно выбрать кровь в качестве такого объекта в силу ее доступности. Однако цельная кровь является слишком сложной многокомпонентной системой для исследования прецизионными физическими методами, поэтому зачастую вместо цельной крови используют сыворотку или плазму [1–4]. Экспериментально показано, что магнитно-резонансные характеристики, в частности времена спин-решеточной релаксации протонов плазмы крови больных онкологическими заболеваниями, отличаются от соответствующих характеристик плазмы крови здоровых доноров [1, 5, 6]. Однако в ряде случаев достоверная дифференциация здоровых и онкобольных доноров по ЯМР-характеристикам весьма проблематична вследствие перекрывания распределений магнитно-резонансных характеристик [7, 8]. Одним из способов решения данной проблемы является избирательное воздействие на онкоспецифичную компоненту плазмы крови. Для достоверного диагностирования онкологического процесса необходимо, чтобы это воздействие приводило к такому изменению ЯМР-параметров, которое позволило бы существенно уменьшить перекрытие распределений ЯМР-характеристик здоровых и онкобольных доноров.

Такой онкоспецифичной компонентой, согласно литературным источникам, может быть альбумин, который проявляет высокую связывающую способность по отношению к различным высокомолекулярным соединениям (жирные кислоты),

в том числе и к опухолевым метаболитам, являющимся «маркерами» онкопроцесса [9, 10]. По некоторым данным связывание молекулами альбумина опухолевых метаболитов приводит к конформационным изменениям альбумина, на основании чего недавно был предложен метод диагностики онкологических заболеваний, в котором конформационное состояние альбумина предлагается тестировать путем добавления в плазму крови специальной метки – 16-доксилстеариновой кислоты (16-ДСК) [9]. Поскольку 16-ДСК парамагнитна, то изменения при ее связывании с альбумином будут отражаться на спектрах электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) молекул метки, что используется авторами данного метода диагностики.

Исходя из вышесказанного, можно предположить, что взаимодействие альбумина и 16-ДСК будет сказываться и на параметрах ЯМР-релаксации плазмы крови. Если учесть тот факт, что альбумин способен образовывать комплексы, в том числе и с опухолевыми метаболитами, то очевидно, что в этом случае характер его связывания с меткой будет отличаться от чистого (свободного) альбумина. Следовательно, времена релаксации плазмы крови здоровых и онкобольных доноров в присутствии 16-ДСК должны отличаться. Чтобы реализовать данный подход, в первую очередь необходимо установить, позволяет ли применение 16-ДСК получать информацию о связывающей способности альбумина по данным ЯМР-релаксации.

1. Объекты и методы исследования

Для исследования альбумин производства фирмы Sigma Chemicals растворяли в фосфатном буфере (рН 7.4). Итоговая концентрация раствора составляла 40 г/л, что соответствует концентрации альбумина в организме человека.

Для приготовления буфера (рН 7.4) смешивались соли $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ и $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.

Плазму получали путем забора крови из локтевой вены человека непосредственно в вакуумную пробирку с антикоагулянтом (этилендиаминтетрауксусная кислота – ЭДТА) и дальнейшего ее центрифугирования в течение 15 мин с ускорением 1500 g , где $g = 9.81 \text{ м/с}^2$ – ускорение свободного падения.

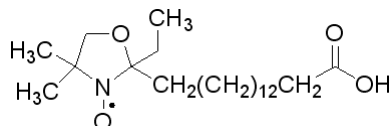


Рис. 1. Структурная формула молекулы 16-доксилстеариновой кислоты

16-доксилстеариновая кислота (см. рис. 1) относится к жирным кислотам и потому нерастворима в воде, следовательно, и в плазме крови. Чтобы исключить возможность образования надмолекулярных комплексов, являющихся результатом агрегирования молекул 16-ДСК в водном окружении, 16-ДСК предварительно растворяют в этиловом спирте [9, 10]. Эта процедура, с одной стороны, позволяет увеличить вероятность взаимодействия молекул 16-ДСК и альбумина, но, с другой стороны, присутствие в системе спирта приводит к взаимодействию его с компонентами системы и усложняет интерпретацию экспериментальных данных. Эксперименты по измерению времени ядерной магнитной релаксации проводились на ЯМР-анализаторе «Хроматэк-Протон 20М», произведенном ЗАО СКБ «Хроматэк» (г. Йошкар-Ола, Россия), с резонансной частотой для протонов 20 МГц.

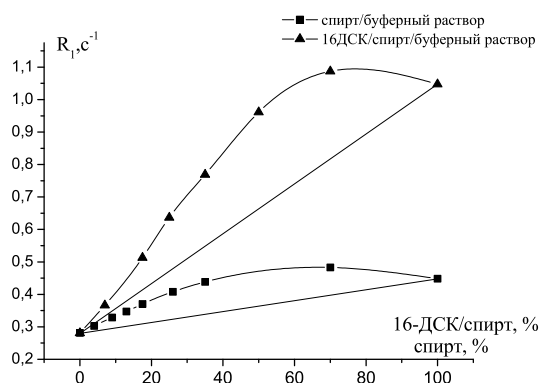


Рис. 2. Зависимость значений скорости спин-решеточной релаксации протонов в смесях спирт/буферный раствор и 16-ДСК/спирт/буферный раствор от состава смеси. Сплошными линиями показаны предполагаемые зависимости значения скорости спин-решеточной релаксации, подчиняющиеся аддитивному закону сложения скоростей, от соотношения компонент для систем спирт/буферный раствор и 16-ДСК/спирт/буферный раствор. Концентрация 16-ДСК в спирте составляла 2,3 г/л. Температура измерения $+37^\circ\text{C}$

Для измерения времени T_1 спин-решеточной релаксации использовалась многоимпульсная последовательность $90^\circ - (\tau_i - 90_x^\circ - \tau_a - \text{аск} - 90_{-x}^\circ)_n$. Диапазон задержек (τ_i) между 90° -импульсами составлял $2 \div 350$ мс. Длительность интервала времени регистрации сигнала аск составляла 10 мкс, $\tau_a = 10$ мкс. Полученные кривые восстановления продольной намагниченности удовлетворительно описывались простой моноэкспоненциальной функцией, что обеспечивало возможность достаточно точного (ошибка менее 5%) определения значений времен спин-решеточной релаксации, а по ним — значений скорости ($R_1 = 1/T_1$) спин-решеточной релаксации для всех исследованных систем. Температура измерения: $310 \pm 0,1$ К.

2. Результаты и их обсуждение

Для создания способа увеличения «системного эффекта», основанного на тестировании парамагнитными молекулами 16-ДСК связывающих свойств альбумина плазмы крови человека, необходимо показать, что время протонной релаксации дает информацию о комплексообразующей способности альбумина. Но для многокомпонентных молекулярных систем, к которым относится плазма крови, сложно выделить доминирующий фактор, определяющий релаксационный процесс. Поэтому необходимо вначале рассмотреть наиболее простые молекулярные системы спирт/буферный раствор и 16-ДСК/спирт/буферный раствор (рис. 2). Можно видеть, что зависимости скоростей спин-решеточной релаксации (R_1) обеих систем от соотношения компонент не являются линейными. Такое поведение значений R_1 связано с взаимодействием спирта и буферного раствора, которое заключается в образовании ассоциатов в системе за счет электростатического взаимодействия и формирования дополнительных водородных связей. Необходимо отметить, что значение скорости спин-решеточной релаксации R_1 системы 16-ДСК/спирт/буферный раствор больше в несколько раз значений R_1 для протонов в системе спирт/буферный раствор. Наиболее вероятным объяснением такого увеличения скорости релаксации R_1 может быть возникновение в системе дополнительного механизма релаксации — электрон-ядерного диполь-дипольного взаимодействия между неспаренными электронами парамагнитных молекул 16-ДСК и протонами исследуемой молекулярной системы [11].

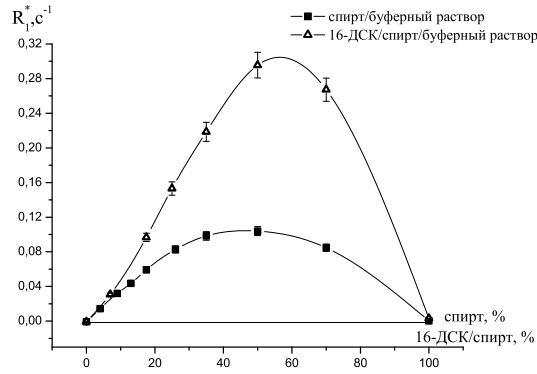


Рис. 3. Зависимости величины неаддитивного вклада в среднюю скорость спин-решеточной релаксации протонов в смесях спирт/буферный раствор и 16-ДСК/спирт/буферный раствор от состава смеси. Концентрация 16-ДСК в спирте составляла 2.3 г/л. Температура измерения $+37^\circ\text{C}$

Согласно теории релаксации в растворах средняя скорость спин-решеточной релаксации, например, двухкомпонентной системы при отсутствии взаимодействия между ее компонентами может быть представлена в соответствии с аддитивной схемой [11] в следующем виде:

$$R_1^{\text{add}} = aR_{1a} + bR_{1b}, \quad a + b = 1, \quad (1)$$

где a и b – доли компонент системы, R_{1a} и R_{1b} – исходные скорости спин-решеточной релаксации соответствующих подсистем.

В случае наличия взаимодействия между компонентами системы наблюдаемая скорость релаксации будет определяться не только исходными скоростями R_{1i} подсистем, но и некоторым дополнительным слагаемым R_1^* , отражающим степень взаимодействия этих подсистем. Это слагаемое назовем неаддитивной составляющей скорости спин-решеточной релаксации системы. Тогда уравнение (1) преобразуется к следующему виду:

$$R_1 = aR_{1a} + bR_{1b} + R_1^*.$$

Заметим, что величина R_1^* по сути есть разница между измеренной скоростью релаксации системы и ее ожидаемым значением согласно аддитивной схеме сложения скоростей. В общем случае величина R_1^* может иметь как положительный, так и отрицательный знак.

На рис. 3 приведены зависимости R_1^* модельных систем спирт/буферный раствор и 16-ДСК/спирт/буферный раствор от концентрации спирта и раствора 16-ДСК/спирт соответственно. Очевидно, что введение 16-ДСК в систему приводит к заметному росту значений R_1^* . Известно, что в парамагнитных растворах увеличение скорости релаксации ядер молекул растворителя происходит за счет их диполь-дипольного и скалярного взаимодействия с неспаренными электронами парамагнитных частиц, гиромангнитное отношение которых примерно в 1000 раз больше, чем у ядер. В этом случае спин-решеточную релаксацию для внутримолекулярного вклада можно охарактеризовать выражением [11]:

$$\left(\frac{1}{T_1}\right) = \frac{2}{15} \hbar^2 \gamma_I^2 \gamma_S^2 S(S+1) r^{-6} \times \\ \times \left(\frac{\tau_c}{1 + (\omega_{0I} - \omega_{0S})^2 \tau_c^2} + \frac{3\tau_c}{1 + \omega_{0I}^2 \tau_c^2} + \frac{6\tau_c}{1 + (\omega_{0I} + \omega_{0S})^2 \tau_c^2} \right),$$

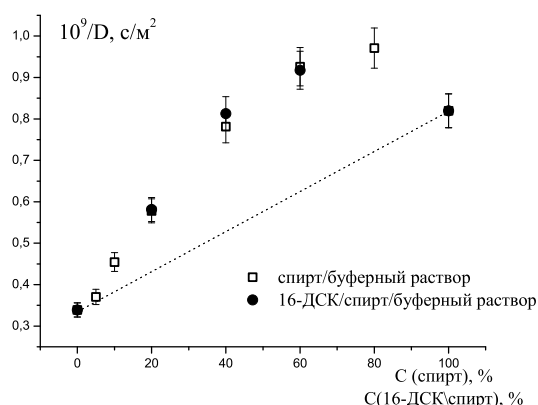


Рис. 4. Зависимости обратных значений КСД протонов в смесях спирт/буферный раствор и 16-ДСК/спирт/буферный раствор от состава смеси. Концентрация 16-ДСК в спирте составляла 2.3 г/л. Температура измерения +37 °С

где γ_I , γ_S — гиромагнитные отношения ядер I и S ; ω_{0I} , ω_{0S} — резонансные частоты ядер I , S ; τ_c — время корреляции для внутримолекулярного диполь-дипольного взаимодействия; r — расстояние между взаимодействующими спинами. Скорость релаксации парамагнитного раствора фактически определяется параметрами неспаренных электронов парамагнитных частиц (γ_S , ω_{0S}), а не параметрами ядер растворителя (γ_I , ω_{0I}).

Итак, взаимодействие, обуславливающее наличие неаддитивной составляющей скорости спин-решеточной релаксации в системе спирт/буферный раствор, становится более выраженным в присутствии парамагнитных молекул 16-ДСК. Можно предположить, что добавление парамагнитной примеси не приводит к изменению молекулярной структуры водно-спиртового раствора. Однако это утверждение требует дополнительной проверки, например, путем исследования трансляционной диффузии. На рис. 4 представлены зависимости обратных значений коэффициентов самодиффузии (КСД) от соотношения компонент для систем спирт/буферный раствор и 16-ДСК/спирт/буферный раствор.

Из графика видно, что по данным самодиффузии сравниваемые системы не различаются, что может служить подтверждением гипотезы о неизменности структуры молекулярной системы спирт/буферный раствор при введении в нее молекул 16-ДСК.

Таким образом, введение в систему парамагнитных молекул можно рассматривать как способ усиления взаимодействия между молекулярными компонентами, проявляющийся во времени спин-решеточной релаксации. Причем формально для описания этого явления можно ввести некий количественный параметр — коэффициент усиления κ . Тогда неаддитивные составляющие скорости спин-решеточной релаксации R_1^* системы 16-ДСК/спирт/буферный раствор могут быть выражены через соответствующие значения R_1^* системы спирт/буферный раствор и введенный коэффициент усиления. Однако необходимо учесть наблюдаемое при добавлении парамагнитной метки смещение максимума значений R_1^* в область больших концентраций спирта (рис. 3). Наличие такого смещения не противоречит высказанному предположению относительно поведения метки в системе спирт/буферный раствор, поскольку оно является следствием переменной концентрации молекул 16-ДСК (в пределах $0 \div 2.3$ г/л).

Итак, с учетом вышесказанных замечаний неаддитивный вклад в скорость спин-решеточной релаксации R_1^* системы 16-ДСК/спирт/буферный раствор мож-

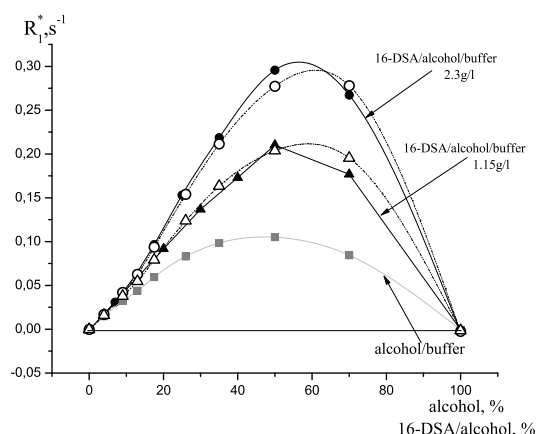


Рис. 5. Экспериментальные зависимости величины неаддитивного вклада в среднюю скорость спин-решеточной релаксации протонов в смесях спирт/буферный раствор и 16-ДСК/спирт/буферный раствор от состава смеси. Пунктирными линиями показаны рассчитанные по формуле (2) зависимости R_1^* от состава смеси. Концентрация 16-ДСК в спирте составляла 2.3 и 1.15 г/л. Температура измерения 310 К

но представить в виде:

$$R_1^* = R_1^*(\text{alcohol/buffer}) \left(1 + \kappa \frac{C}{100\%} \right), \quad (2)$$

где C – концентрация спирта в процентах. Для концентрации 2 г/л раствора 16-ДСК/спирт $\kappa = 3.28$, а для 1.15 г/л – $\kappa = 1.88$ (рис. 5).

Перейдем к рассмотрению модельных систем, содержащих альбумин. Прежде всего определим, как отразится присутствие альбумина на величине скорости спин-решеточной релаксации системы спирт/буферный раствор в отсутствие парамагнитной метки. Для этого сравним зависимости величины неаддитивного вклада в среднюю скорость спин-решеточной релаксации (R_1^*) в смесях спирт/буферный раствор и спирт/буферный раствор/альбумин от концентрации спирта (рис. 6). Экспериментальные кривые, описывающие R_1^* сравниваемых систем, не имеют существенных отличий. Это означает, что наличие альбумина в системе спирт/буферный раствор в концентрации, близкой к физиологическому значению плазмы крови, не оказывает влияния на R_1^* и никак не влияет на взаимодействие спирта и буферного раствора.

Теперь, чтобы определить влияние альбумина на релаксационный параметр R_1^* системы, включающей в себя парамагнитные молекулы 16-ДСК, рассмотрим зависимости R_1^* систем 16-ДСК/спирт/буферный раствор/альбумин и 16-ДСК/спирт/буферный раствор от соотношения компонент (рис. 7).

Видно, что в области концентраций 16-ДСК/спирт 0–50% присутствие альбумина в системе 16-ДСК/спирт/буферный раствор приводит к заметному увеличению неаддитивной составляющей скорости спин-решеточной релаксации, причем в области максимума (25–30% смеси 16-ДСК/спирт) значения R_1^* сравниваемых систем отличаются в 3 раза. Из сравнения данных, приведенных на рис. 3, 6, 7 следует, что обсуждаемый эффект может быть связан только с особенностями взаимодействия молекул альбумина с 16-ДСК. Действительно, основываясь на литературных данных, согласно которым 16-ДСК обладает высокой способностью связываться с альбумином [9], можно предположить, что молекулы 16-ДСК в системе 16-ДСК/спирт/буферный раствор/альбумин уже не обладают свойствами

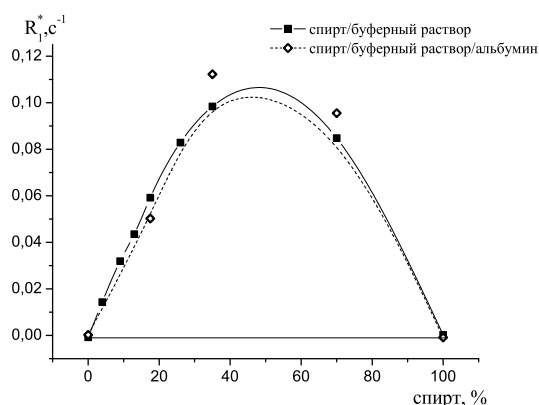


Рис. 6. Зависимости величины неаддитивного вклада в среднюю скорость спин-решеточной релаксации протонов в смесях спирт/буферный раствор и спирт/буферный раствор/альбумин от концентрации спирта. Концентрация альбумина в буфере составляла 40 г/л. Температура измерения $+37^\circ\text{C}$

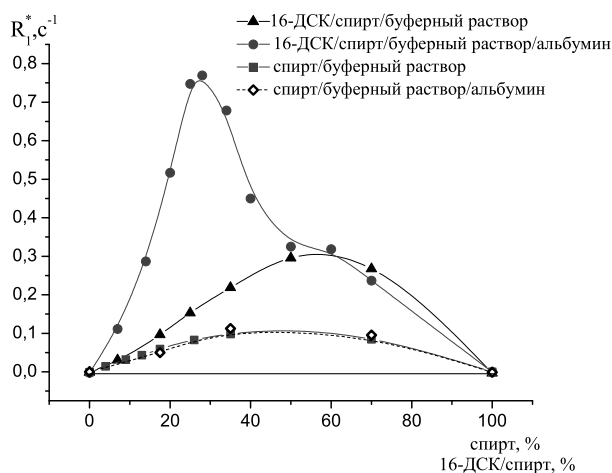


Рис. 7. Зависимости величины неаддитивного вклада в среднюю скорость спин-решеточной релаксации протонов в смесях спирт/буферный раствор, спирт/буферный раствор/альбумин, 16-ДСК/спирт/буферный раствор и 16-ДСК/спирт/буферный раствор/альбумин от состава смеси. Концентрация 16-ДСК в спирте составляла 2.3 г/л. Концентрация альбумина в буфере составляла 40 г/л. Температура измерения $+37^\circ\text{C}$

обычных парамагнитных примесей, а проявляют себя как парамагнитные зонды, непосредственно взаимодействуя с компонентами системы.

Интересно отметить, что это взаимодействие привело к увеличению значений R_1^* , хотя на первый взгляд эффект должен быть обратным. Так, разумно предположить, что при образовании комплекса 16-ДСК с альбумином влияние от парамагнитных молекул 16-ДСК должно уменьшиться из-за экранирования их поля в результате встраивания 16-ДСК в молекулу альбумина. Следовательно, должен быть другой механизм, объясняющий рост значений R_1^* . В самом деле если учитывать, что в жидкостях диполь-дипольное взаимодействие частично усредняется благодаря вращательной подвижности молекул, а в составе комплекса с альбумином степень вращательной подвижности 16-ДСК снижена, то картина будет соот-

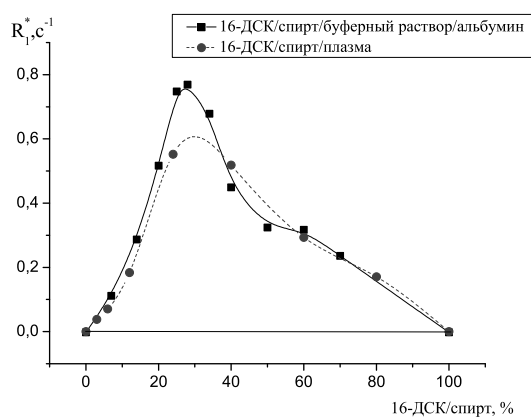


Рис. 8. Зависимости величины вклада в среднюю скорость R_1^* спин-решеточной релаксации протонов в смесях 16-ДСК/спирт/плазма и 16-ДСК/спирт/буферный раствор/альбумин от состава смеси. Концентрация 16-ДСК в спирте составляла 2.3 г/л. Концентрация альбумина в буфере составляла 40 г/л, температура измерения 310 К

ветствовать наблюдаемой на эксперименте. А именно скорости спин-решеточной релаксации возрастут, как результат взаимодействия молекул 16-ДСК с альбумином. При этом остается вопрос, что же происходит со взаимодействием в области концентраций 16-ДСК/спирт ≈ 50 –100% (см. рис. 7), при которых значения R_1^* исследуемых систем не имеют существенных отличий. Поскольку концентрация альбумина на протяжении эксперимента оставалась постоянной, то наиболее вероятным представляется предположение об отсутствии взаимодействия между альбумином и 16-ДСК в указанной области концентраций. Фактор, который может привести к блокированию такого взаимодействия, – это существенное увеличение концентраций спирта в системе. Установлено, что в области концентраций 50–100% 16-ДСК/спирт происходит изменение физических свойств раствора 16-ДСК/спирт/буферный раствор/альбумин, а именно изменение прозрачности и вязкости при увеличении концентрации спирта, что может свидетельствовать, в свою очередь, о частичной денатурации альбумина и потере его связывающей способности. На основании этих данных очевидно, что наибольший интерес в контексте поиска метода ранней диагностики представляет смесь 16-ДСК/спирт/буферный раствор альбумина, содержащая 15–50% спирта и 0.2–1 г/л 16-ДСК. При указанной концентрации влияние метки уже существенно, а влияние спирта еще не приводит к блокированию взаимодействия 16-ДСК и альбумина.

Используя данные, полученные при рассмотрении модельных систем, приступим к анализу систем, содержащих плазму крови и молекулы 16-ДСК. Будут ли в этом случае молекулы 16-ДСК образовывать комплексы именно с альбумином? Для этого проведем сравнение значений R_1^* систем 16-ДСК/спирт/буферный раствор/альбумин и 16-ДСК/спирт/плазма (см. рис. 8). Видно, что значения R_1^* сравниваемых систем не имеют существенных отличий во всем диапазоне концентраций раствора 16-ДСК/спирт. Кроме того, максимумы R_1^* сравниваемых систем находятся примерно в одной и той же области концентраций 16-ДСК/спирт, хотя значения максимумов и отличаются почти на 20%. Однако относительное уменьшение R_1^* системы 16-ДСК/спирт/плазма вполне ожидаемо, поскольку в плазме крови помимо альбумина множество других компонент, потенциально способных взаимодействовать с молекулами 16-ДСК и влиять на значения R_1^* . Тем не менее близость зависимостей R_1^* систем 16-ДСК/спирт/плазма и 16-ДСК/спирт/буферный рас-

твор/альбумин от состава смесей является подтверждением того, что взаимодействие парамагнитной метки с альбумином в регистрируемом неаддитивном вкладе скорости спин-решеточной релаксации протонов плазмы является доминирующим.

Полученный результат показывает принципиальную возможность модификации способа диагностики онкозаболеваний, предлагаемого в работах [9, 10], путем использования методов ЯМР-релаксометрии вместо ЭПР-спектроскопии.

Работа выполнена при поддержке Министерства образования науки РФ (тема «Бюджет12-15», включенная в госзаказ КФУ 2012 г., шифр 2.2792.2011).

Summary

T.N. Nikolaeva, M.A. Rudakova, Yu.A. Fatrahmanova, A.Sh. Gizzatullina, V.D. Skirda.
A Research on Albumin and 16-Doxyl Stearic Acid Complex Formation in Water Solutions by ^1H Relaxation Method.

This paper presents the results of a study of proton spin-lattice relaxation times in binary and ternary molecular systems containing buffer, human serum albumin, alcohol, human blood plasma, and 16-doxyl stearic acid (16-DSA). It is shown possible to trace albumin binding capacity changes according to spin-lattice relaxation times using 16-DSA type spin-labeled fatty acid injections into blood plasma.

Key words: NMR, spin-lattice relaxation, 16-doxyl stearic acid, albumin, blood plasma, oncology.

Литература

1. *Frey H.E., Knispel R.R., Kruuv J., Sharp A.R., Thompson R.T., Pinter M.M.* Proton spin-lattice relaxation studies of nonmalignant tissues of tumorous mice // *J. Natl. Cancer Inst.* – 1972. – V. 49, No 3. – P. 903–906.
2. *Floyd R.A., Leigh J.S. Jr., Chance B., Miko M.* Time course of tissue water proton spin-lattice relaxation in mice developing ascites tumors // *Cancer Res.* – 1974. – V. 34, No 1. – P. 89–91.
3. *Beall P.T., Narayana P.A., Amtey S.R., Spiga L., Intra E., Ridella S., Mela G.S.* The systemic effect of cancers on human sera proton NMR relaxation times // *Magn. Reson. Imaging.* – 1984. – V. 2, No 2. – P. 83–87.
4. *Ревокатов О.П., Гангардт М.Г., Мурашко В.В., Журавлев А.К.* ЯМР-релаксация в сыворотке крови человека и диагностика злокачественных новообразований // *Биофизика.* – 1982. – Т. 27. – С. 336–338.
5. U.S. Patent No. 5213101. Process for the detection of cancer using nuclear magnetic resonance / E.T. Fossel. – US005213101A; Pub. Date Apr. 27, 1990; Iss. Date May 25, 1993.
6. *Байжиев Р.Ф., Хайруллина В.Р., Зиятдинов К.М. и др.* Изменение времен ЯМР- ^1H -релаксации сыворотки крови как метод лабораторной диагностики // *Лабораторное дело.* – 1990. – № 12. – С. 17–19.
7. *Гангардт М.Г., Карякина Н.Ф., Павлов А.С., Папиш Е.А.* Сравнение уровня эндогенных парамагнетиков в сыворотке крови в норме и при патологии методом протонной магнитной релаксации // *Бюл. эксперим. биологии и медицины.* – 1995. – № 11. – С. 557–560.
8. *Гангардт М.Г.* Протонная ЯМР-релаксация неводной компоненты сыворотки крови человека // *Бюл. эксперим. биологии и медицины.* – 1995. – № 10. – С. 445–448.

9. U.S. Patent No. 7166474 B2. Method for the ESR-spectroscopic detection of changes in the transport properties of albumin in an albumin-containing samples, ESR-spectrometer for carrying out said method, and use of the method for diagnostic purposes and for controlling albumin-containing preparations / V.A. Muravsky, A. Milutin, G.A. Matthes, G. Seibt. – US 2003/0170912 A1, Pub. Date Sep. 11, 2003; Iss. Date Jan. 23, 2007. – 14 p.
10. *Kazmierczak S.C., Gurachevsky A., Matthes G., Muravsky V.* Electron spin resonance spectroscopy of serum albumin: a novel new test for cancer diagnosis and monitoring // Clin. Chem. – 2006. – V. 52, No 11. – P. 2129–2134.
11. *Чижик В.И.* Ядерная магнитная релаксация. – СПб.: С.-Петербург. гос. ун-т, 2000. – 386 с.

Поступила в редакцию
08.12.11

Николаева Татьяна Николаевна – аспирант кафедры физики молекулярных систем Казанского (Приволжского) федерального университета.

E-mail: *tattina@list.ru*

Рудакова Майя Анатольевна – кандидат физико-математических наук, ассистент кафедры физики молекулярных систем Казанского (Приволжского) федерального университета.

Фатрахманова Юлия Анатольевна – студент кафедры физики молекулярных систем Казанского (Приволжского) федерального университета.

E-mail: *YuliaFatrakhmanova@yandex.ru*

Гиззатуллина Асия Шамилевна – магистрант по направлению «Физика магнитных явлений» Казанского (Приволжского) федерального университета.

Скирда Владимир Дмитриевич – доктор физико-математических наук, профессор, заведующий кафедрой физики молекулярных систем Казанского (Приволжского) федерального университета.

E-mail: *Vskirda@ksu.ru*